Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 14, No. 3, Fall 2022, p. 447-457

Molecular Diversity and Phylogenetic Analysis of Turkmen Camel and Different Species of Camels based on CYTB Gene Sequence

Karim Nobari[1]*, Abbas Bahari[2], Shokoufe Ghazanfari[3]

Received: 20-04-2021
Revised: 07-09-2021
Accepted: 08-11-2021
Available Online: 13-11-2022

How to cite this article:
Nobari, K., Bahari, A., & Ghazanfari, S. (2022). Molecular diversity and phylogenetic analysis of Turkmen camel and different species of camels based on CYTB gene sequence. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *14*(3), 447-457.
DOI: 10.22067/ijasr.2021.69937.1017

Introduction: Camels play a major role in the life of people in parts of Africa and Asia, especially in the desert areas. Today, camels are important for sustainable livestock production species in many arid regions of the world. Camels are economically important in terms of meat, milk and wool production in the desert. Due to climate change, camel as a desirable animal for arid areas, requires more extensive scientific view. According to FAO statistics, about 95% of 35 million humped camels worldwide are single-humped camels. The cytochrome b sequence is part of the mitochondrial DNA, passing from mother to offspring's, can be used to elucidate genetic diversity and evolutionary history within and between different species. The aim of this study was to compare the genetic diversity using cytochrome b sequence in Turkmen camel and its genetic relationship with one and two-humped camels. In addition, the genetic relationship of within and between different species of camels has been objected.

Materials and Methods: After preparing a blood sample from the abdominal vein of Turkmen camel, DNA extraction was performed using salting out method. Turkmen camel sequencing was performed using Illumina HighSeq 2000. Sequencing creates 150 bp reads of the genome sequence. The reads were assembled by Denovo method using CLC software and the contig of containing the cytochrome b gene was isolated based on the reference gene, NC_009849. Relevant data were obtained to compare the CYTB reference gene in new (Lamini) and old (Camelini) world species of camels. To study the genetic diversity of the camel species, a total of 42 one-humped camels, 31 wild tow-humped camels, 121 domestic tow-humped camels, and wild lamas including 31 guanicoe (Lama guanico) And 6 vicogna-vicogna (vicogna vicogna) and domestic llamas including 6 lama glama and 5 alpaca (Lama pacos) were compared. The alignment of CYTB gene sequence samples of different species was performed using CLC Genomics Workbench 12 software. Then the number of gaps, the number of differences and identities were obtained. A phylogenetic tree was drawn to investigate the genetic relationships between and within species. Sequences of Turkmen camels and other Iranian and Arabian one-humped camels along with other species were analyzed for alignment using CLC software. Phylogenetic tree of DNA and proteins sequences of the gene was performed using Neighbor Joining method with Jukes-Cantor protein distance size with 1000 bootstrap replications.

Results and Discussion: DNA extraction based on spectrophotometry was 304 ng/µl and was suitable for sequencing. After sequencing, 589,326,158 readings of 150 base-pairs containing more than 88 billion bases were obtained. Assembling of the obtained reads produced 235978 contigs from which the contig of containing cytochrome b gene was selected based on the reference gene. The sequence of other camel species was extracted from the database and used based on the fact that the data contained the entire cytochrome b gene, which corresponds to 1140 bp of the reference gene. There is the biggest difference between new world of wild and domestic camels. There was a minimal difference between Arabian and Turkmen camels with 100% similarity,

1- Assistant Professor, Animal Science Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Gorgan, Iran.
2- Assistant Professor, Research Institute of modern biological techniques, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
3- Associated Professor, Department of Animal and Poultry Sciences, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Tehran, Iran.
*Corresponding Author Email: k.nobari@areeo.ac.ir

followed by Lama Glama and Lama Guanico, as well as between wild and domestic two-humped camels. The Turkmen camel was completely similar to the Arabian camel and had the greatest difference with wild two-humped camels. In the study of Di Rocco et al. (2010) it was shown that the difference of cytochrome b sequence between wild camels (VV and L Cuanicoe) was 6.4%, which in this study was 6.3% which could be due to the larger number of samples in this study. The phylogenetic tree of cytochrome b protein sequence showed that the llamas and one and two-humped camels are located in different branches of the tree. According to the results of DNA phylogenetic tree, llamas were on one side and two-humped camels were on the other side of the tree and one-humped camels were located between them. There was a great diversity within the population of llamas. Some domestic one and two-humped camels are associated with wild two-humped camels. The results indicate that wild two-humped female camels were mated with domestic one and two-humped males that resulted one and two-humped domestic camels phenotype. The same is true of llamas, with domesticated Lama Glama and Lama Pacos locating among the wild species of Lama Guanicoe and Vicogna vicogna phylogenetic branch. Ming et al. (2016) demonstrated that domestic and wild two-humped camel species are genetically distinct from each other. In this study, it was shown that the domestic and wild two-humped camels is phylogenetically close to each other and distanced from one-humped camels. Based on the cytochrome b sequence, Cui et al. (2007) were concluded that one and two-humped camels separated before migrating to Eurasia. Similarly, in this study, it has been shown that one-humped camels are separated from two-humped camels, then wild and domestic two-humped camels are separated from each other. As a result, there is a greater phylogenetic distance between llamas and humped camels.

Conclusion: Iranian one-humped camels can be classified into four genetic groups, two of which are originated from wild and domestic two-humped camels and the other two groups are among the one-humped camels. Iranian domestic two-humped camels were also phylogenetically divided into four genetic groups.

Keywords: Cytochrome B, Genetic diversity, Phylogenetic tree, Turkmen camel.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

تنوع مولکولی و تجزیه فیلوژنتیکی شتر ترکمن و گونه‌های مختلف شتر براساس توالی ژن سیتوکروم b

کریم نوبری[1*]، عباس بهاری[2]، شکوفه غضنفری[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۳۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۶/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۱۷

نوبری، ک.، بهاری، ع.، و غضنفری، ش. (۱۴۰۱). تنوع مولکولی و تجزیه فیلوژنتیکی شتر ترکمن و گونه‌های مختلف شتر براساس توالی ژن سیتوکروم b. *پژوهش‌های علوم دامی ایران، ۱۴* (۳)، ۴۵۷-۴۴۷.

چکیده

شتر یکی از دام‌های بسیار مهم در مناطق خشک و بیابانی می‌باشد و با توجه به تغییرات اقلیمی، به‌عنوان حیوان مطلوب برای این مناطق مستلزم نگاه علمی دقیق‌تری است. مطالعات اندکی در رابطه با تنوع و خصوصیات ژنتیکی آن در مقایسه با سایر گونه‌های دامی صورت گرفته است. شناخت خصوصیات ژنتیکی می‌تواند در تعیین استراتژی‌های حفظ تنوع ژنتیکی و اصلاح نژاد کمک کند. به‌منظور بررسی ساختار جمعیتی و تنوع ژنتیکی موجود در بین و درون گونه‌های مختلف شتر می‌توان از نشانگرهای موجود بر روی DNA میتوکندری استفاده نمود. هدف این مطالعه مقایسه تنوع ژنتیکی با استفاده از توالی سیتوکروم b میتوکندری شتر تک‌کوهانه ترکمن با شترهای تک‌کوهانه، دوکوهانه و گونه‌های شتر بدون کوهان بود. برای این منظور، توالی کامل سیتوکروم b به‌طول ۱۱۴۰ جفت باز در شتر ترکمن با استفاده از روش توالی‌یابی کل ژنوم به‌دست آمد و با توالی سیتوکروم b در ۴۲ نفر شتر تک‌کوهانه، ۳۱ نفر شتر دوکوهانه وحشی، ۱۲۱ نفر شتر دوکوهانه اهلی، شترهای بدون کوهان وحشی شامل ۳۱ رأس گواناکو (Lama guanicoe) و شش رأس ویکونا-ویکونا (vicugna vicugna) و شترهای بدون کوهان اهلی شامل شش رأس لاما گلاما (Lama glama) و پنج رأس آلپاکا (Lama pacos) مورد مقایسه قرار گرفتند. شترهای تک‌کوهانه ایرانی با شترهای دوکوهانه وحشی ارتباط ژنتیکی داشتند، به‌طوری‌که ماده شترهای دوکوهانه وحشی با شترهای نر تک‌کوهانه آمیزش داده شده‌اند. به نظر می‌رسد که شترهای تک‌کوهانه دارای مادران دوکوهانه وحشی در شجره خود، به‌طور کامل از کشور ایران می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، درخت فیلوژنتیکی، سیتوکروم b، شتر ترکمن.

مقدمه

جمعیت‌های مختلف شتر دارای تنوع ژنتیکی بوده و تعداد زیادی از آلل‌های منحصر به فرد دارند که می‌تواند برای افزایش تنوع ژنتیکی دیگر جمعیت‌های شتر به‌کار گرفته شوند. اطلاعات در رابطه با تنوع ژنتیکی می‌تواند در تعیین استراتژی‌های حفاظت و بهبود ژنتیکی مورد استفاده قرار گیرد (Piro *et al.*, 2020). شتر در زندگی مردمان بخش‌هایی از آفریقا و آسیا، به‌خصوص مناطق صحرایی، نقش اساسی داشته است (Bahbahani *et al.*, 2019). شتر جهت حمل و نقل، منبع

۱- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران.
۲- استادیار پژوهشکده فناوری‌های نوین زیستی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.
۳- دانشیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان،دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: k.nobari@areeo.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2021.69937.1017

غذا و همچنین جنگ مورد استفاده قرار می‌گرفته است. امروزه شتر به‌عنوان گونه دامی پایدار برای پرورش در بسیاری از مناطق خشک جهان دارای اهمیت می‌باشد (Burger, 2016). شتر به‌دلیل تولید شیر، گوشت، پشم، چرم، حمل بار، راهپیمایی طولانی، مقاومت به دمای زیاد و شرایط خشک دارای اهمیت می‌باشد (Faraz, 2019; Bhakat and Sahani 2019; Gebreyohanes and Assen, 2017). شترهای اهلی کوهان‌دار در مناطق صحرایی از لحاظ تولید گوشت، شیر و پشم دارای اهمیت اقتصادی می‌باشند (Groeneveld *et al.*, 2010). بر اساس آمار فائو حدود ۳۵ میلیون رأس شتر کوهان‌دار در سراسر دنیا وجود دارند (FAO, 2019) که ۹۵ درصد آن را شتر تک‌کوهانه تشکیل می‌دهد (Hashim *et al.*, 2015).

شتر ترکمن در بیابان‌های نوار مرزی استان گلستان در محدوده‌ای بین شهرهای مراوه‌تپه، کلاله، گنبد کاووس، آق‌قلا، گمیشان و بندرترکمن و برای مصرف شیر و تولید گوشت پرورش داده می‌شود. پرورش‌دهندگان این اکوتیپ از شتر ایرانی، به‌واسطه فرهنگ و سنت خود، تولید شیر را بیشتر از سایر صفات مورد توجه قرار داده‌اند.

شتر از راسته زوج‌سمان (Artiodactyla) و خانواده camelida، در دوره ائوسن در آمریکای شمالی زندگی می‌کردند که حدود سه میلیون سال پیش مهاجرت خود را به اوراسیا و آمریکای جنوبی آغاز کردند که نتیجه آن ایجاد شترهای کوهان‌دار و بدون کوهان امروزی بوده است (Wheeler, 1995). شترهای کوهان‌دار شامل شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه هستند که در صحراهای آفریقا و آسیا زندگی می‌کنند (Wu *et al.*, 2014). خانواده camelida دارای سه جنس camelus، vicugna و lama می‌باشد که جنس camelus داری سه گونه شتر تک‌کوهانه اهلی(dromedaries)، شتر دوکوهانه وحشی (ferus) و شتر دوکوهانه اهلی (bactrianus) و جنس vicugna دارای دو گونه vicugna و pacos و جنس lama دارای دو گونه glama و guanicoe می‌باشد (Ali *et al.*, 2019). تمام گونه‌های این خانواده دارای ۷۴ کروموزوم (۳۷ جفت) بوده و از لحاظ مقدار و الگوی توزیع هتروکروماتین با یکدیگر تفاوت دارند (Balmus *et al.*, 2007).

توالی ژن سیتوکروم b دارای هر دو نوع از کدون‌های در حال تکامل سریع و کند بوده، به‌طوری‌که دارای مناطق بسیار حفاظت شده و مناطق بسیار متغیر می‌باشد (Kameshpandian *et al.*, 2016). توالی سیتوکروم b بخشی از DNA میتوکندریایی می‌باشد که این نوع توالی معمولاً از مادر به فرزند منتقل می‌گردد. توالی DNA میتوکندریایی می‌تواند برای شفاف نمودن تنوع ژنتیکی و تاریخچه تکاملی درون و بین گونه‌های مختلف استفاده گردد (Ming *et al.*, 2016). بنابراین، در این نوع مطالعات از تولی سیتوکروم b استفاده می‌گردد. توالی ژن سیتوکروم b برای تشخیص منشأ گوشت حیوانات اهلی، وحشی و ماهیان نیز قابل استفاده می‌باشد (Farag *et al.*, 2020). در مطالعه الاسکر و همکاران (AlAskar *et al.*, 2020) که با استفاده از ۱۰ مارکر STR بر روی ۷۰۱ نفر از ۲۷ نوع شتر که در ۱۱ کشور مختلف یافت می‌شود، نشان داد که تنوع ژنتیکی تمایزدهنده بین شترهای تک‌کوهانه مورد بررسی یافت نمی‌شود. هدف این مطالعه، مقایسه تنوع ژنتیکی با استفاده از توالی سیتوکروم b در شتر تک‌کوهانه ترکمن و رابطه ژنتیکی آن با شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه بود. علاوه‌بر آن، بررسی وضعیت روابط ژنتیکی در درون و بین گونه‌های مختلف شترهای کوهان‌دار و بدون کوهان مد نظر بوده است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری داده

توالی ژن سیتوکروم B (CYTB) در شتر ترکمن

بعد از تهیه نمونه خون از رگ شکمی یک نفر شتر ترکمن، استخراج DNA به‌روش بهینه نمکی انجام گرفت. توالی‌یابی شتر ترکمن با استفاده از Illumina HighSeq 2000 صورت گرفت. خوانش‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار CLC به‌روش Denovo اسمبل شده و کانتیگ‌ها به‌دست آمدند که از میان آن‌ها کانتیگ مربوط به ژن سیتوکروم b بر اساس ژن رفرنس جداسازی شد. سپس ژن سیتوکروم b شتر ترکمن بر اساس ژن رفرنس شماره NC_009849 از کانتیگ جداسازی گردید.

توالی ژن CYTB در بانک داده

جهت مقایسه ژن رفرنس CYTB در گونه‌های مختلف شتر و همچنین برای به‌دست آوردن تنوع ژنتیکی شترها در درون گونه‌های تک‌کوهانه و دوکوهانه، توالی ژن رفرنس و توالی شترهای مختلف درون گونه‌های شتر تک‌کوهانه و دوکوهانه از بانک داده نوکلئوتیدی مربوط به مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI) به‌دست آمد. به‌طور کلی ژن رفرنس در هفت گونه شترسانان شامل دو گونه شتر دوکوهانه و یک گونه شتر تک‌کوهانه و چهار گونه شتر بدون کوهان از بانک داده بین‌المللی اخذ گردید. جهت بررسی تنوع ژنتیکی درون گونه‌های شتر بدون کوهان، تک‌کوهانه و دو کوهانه، شترهای دنیای جدید و قدیم، در مجموع تعداد ۴۲ نفر شتر تک‌کوهانه، ۳۱ نفر شتر دوکوهانه وحشی، ۱۲۱ نفر شتر دوکوهانه اهلی، شترهای بدون کوهان وحشی شامل ۳۱ رأس گواناکو (Lama guanicoe) و شش رأس ویکونا–ویکونا (vicogna vicogna) و شترهای بدون کوهان اهلی شامل شش رأس لاما گلاما (lama glama) و پنج رأس آلپاکا (Lama pacos) مورد مقایسه قرار گرفتند. از بین توالی‌های مختلف ژن سیتوکروم b موجود در بانک داده، تنها نمونه توالی‌هایی انتخاب گردید که طول آن‌ها برابر ۱۱۴۰ جفت باز بودند.

تجزیه و تحلیل توالی‌های ژن رفرنس و ترسیم درخت

فیلوژنتیکی در گونه‌های مختلف

هم‌ترازی[1] ژن‌های رفرنس گونه‌های مختلف با استفاده نرم‌افزار CLC Genomics Workbench 12 صورت گرفت. سپس گسست‌ها، تعداد تفاوت‌ها و تشابه به‌دست آمد. جهت بررسی میزان روابط ژنتیکی بین گونه‌ها نیز درخت فیلوژنتیکی ترسیم گردید. علاوه‌بر موارد فوق با توجه به حاشیه‌نگاری (Annotation) ژن‌های رفرنس توالی پروتئین نیز به‌دست آمد. توالی‌های پروتئین به‌دست آمده مورد تجزیه هم‌ترازی قرار گرفته و میزان گسست‌ها، تعداد تفاوت‌ها و تشابه‌ها محاسبه گردید. سپس با استفاده از روش Neighbor Joining درخت فیلوژنتیکی مربوط به هم‌ترازی ترسیم شده برای توالی پروتئین نیز ترسیم گردید. ترسیم درخت فیلوژنتیکی توالی پروتئین مربوط به ژن‌های رفرنس با استفاده از روش Neighbor Joining با اندازه فاصله پروتئینی -Jukes Cantor با تعداد تکرار بوت استراپ ۱۰۰۰ انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل توالی‌های ژن در جمعیت‌های گونه‌های مختلف

توالی شتر ترکمن و سایر شترهای ایرانی و عربی تک‌کوهانه به همراه گونه‌های دیگر با استفاده از نرم‌افزار CLC تحت تجزیه هم‌ترازی قرار گرفتند. پس از مشخص شدن تعداد گسست‌ها، تفاوت‌ها و شباهت‌ها، درصد شباهت و تفاوت، درخت فیلوژنتیکی با استفاده از روش Neighbor Joining برای جمعیت‌های گونه‌های مختلف شتر ترسیم گردید.

نتایج و بحث

اخذ توالی ژن

استخراج DNA بر اساس اسپکتروفتومتری مقدار ۳۰۴ نانوگرم در میکرولیتر و مناسب برای توالی‌یابی بود. پس از توالی‌یابی تعداد ۵۸۹/۳۲۶/۱۵۸ خوانش ۱۵۰ جفت بازی شامل بیش از ۸۸ میلیارد باز از توالی‌یابی به‌دست آمد. خوانش‌های به‌دست آمده تعداد ۲۳۵۹۷۸ کانتیگ تولید کردند که از میان آن‌ها کانتیگ مربوط به ژن سیتوکروم b بر اساس ژن رفرنس انتخاب شد. توالی سایر گونه‌های شتر نیز بر اساس اینکه داده مورد نظر حاوی کل ژن سیتوکروم b که منطبق با ۱۱۱۴۰ جفت باز ژن رفرنس می‌باشد، از بانک داده استخراج و مورد استفاده قرار گرفت.

مقایسه توالی ژن در شتر ترکمن با گونه‌های دیگر

کانتیگ به‌دست آمده از شتر ترکمن به همراه ژن‌های رفرنس مربوط به سیتوکروم b در گونه‌های مختلف شتر تحت تجزیه هم‌ترازی قرار گرفتند (شکل ۱).

سپس تعداد گسست‌ها، تفاوت‌ها و تشابه‌ها در نوکلئوتید ژن سیتوکروم b در گونه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱).

همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود، بیشترین تفاوت بین شتر دوکوهانه وحشی و آلپاکا وجود دارد. حداقل تفاوت بین شتر عربی و ترکمن با تشابه ۱۰۰ درصد و سپس، لاما گلاما و لاما گواناکو و همچنین بین شترهای دوکوهانه وحشی و اهلی وجود داشتند. شتر ترکمن به‌صورت کامل مشابه شتر عربی بود و بیشترین تفاوت را در بین شترهای کوهان‌دار با شتر دوکوهانه وحشی داشت. در مطالعه دی–روکو و همکاران (Di Rocco *et al.*, 2010) نشان داده شده که درصد تفاوت توالی سیتوکروم b در بین شترهای بدون‌کوهان وحشی (V vicugna و L Cuanicoe) ۶/۴ درصد محاسبه شده بود که در این مطالعه این میزان برابر ۶/۳ می‌باشد که دلیل تفاوت آن می‌تواند تعداد نمونه بیشتر در این مطالعه باشد. ترسیم درخت فیلوژنتیکی توالی ژن‌های رفرنس گونه‌های مختلف شتر با استفاده از روش Neighbor Joining با اندازه فاصله نوکلئوتیدی Kimura 80 با تعداد ۱۰۰۰ تکرار بوت‌استراپ انجام گرفت (شکل ۲).

توالی پروتئین ژن‌های رفرنس به‌دست آمده و مورد تجزیه هم‌ترازی قرار گرفتند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که هیچ گسستی بین توالی‌های پروتئین گونه‌های مختلف شتر وجود ندارد. در درخت فیلوژنتیکی ترسیمی شترهای بدون‌کوهان، دوکوهانه و تک‌کوهانه در شاخه‌های مختلف قرار گرفتند که در شکل ۲ آورده شده است.

تعداد گسست‌ها، تفاوت‌ها و تشابه‌ها در هم‌ترازی توالی پروتئین ژن رفرنس گونه‌های مختلف شتر به‌صورت جدول محاسبه گردید.

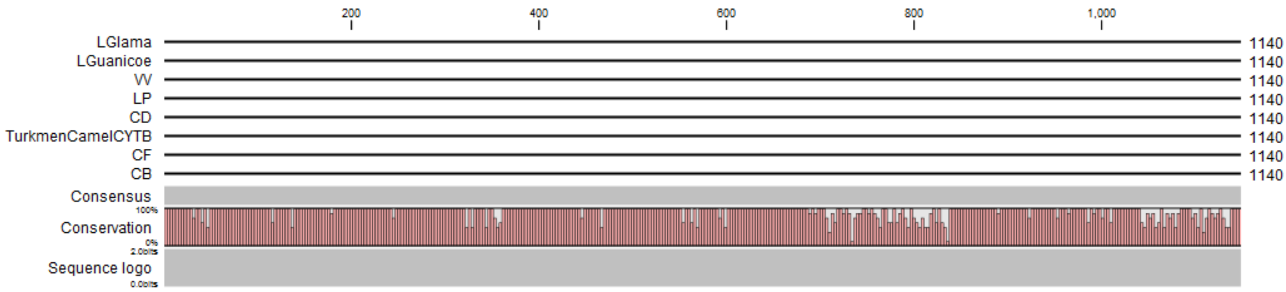
درخت فیلوژنتیکی توالی پروتئین‌های مربوط به ژن‌های رفرنس در شکل زیر آورده شده است.

توالی ژن شتر ترکمن در بین گونه‌های

موقعیت گونه‌های مختلف شتر با ترسیم درخت فیلوژنتیکی برای جمعیت‌های گونه‌ها به‌دست آمد. نتایج ترسیم درخت فیلوژنتیکی گونه‌های مختلف به‌صورت زیر می‌باشد.

همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، شترهای بدون کوهان در یک طرف و شترهای دوکوهانه در طرف دیگر درخت قرار دارند و شترهای تک‌کوهانه در بین آن‌ها قرار گرفته‌اند. در درون جمعیت شترهای بدون کوهان تنوع زیادی وجود داشت.

1- Alignment



شکل ۱– هم‌ترازی توالی DNA ژن سیتوکروم b در شتر ترکمن و سایر گونه‌های شتر

Figure 1- Alignment of DNA sequence of cytochrome b gene in Turkmen camel and other camel species

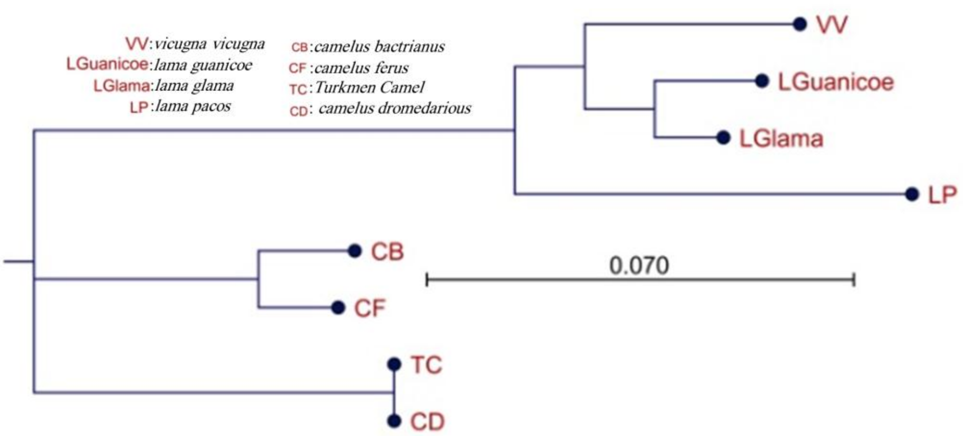
جدول ۱– تعداد گسست، تفاوت‌ها و تشابه نوکلئوتیدهای توالی سیتوکروم b گونه‌های مختلف شتر

Table 1- Number of gaps, differences and identities of CYTB in different camel species

گونه Species	تعداد گسست‌ها Gaps							تعداد تفاوت‌ها Differences							تعداد تشابه Identities						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
2	0							32							1108						
3	0	0						68	72						1072	1068					
4	16	16	16					113	123	134					1035	1025	1014				
5	2	2	2	16				178	184	175	209				963	957	966	939			
6	2	2	2	16	0			178	184	175	209	0			963	957	966	939	1140		
7	2	2	2	16	0	0		167	169	165	211	116	116		974	972	976	937	1024	1024	
8	2	2	2	16	0	0	0	175	177	169	208	110	110	32	966	964	972	940	1030	1030	1108

لاما گلاما (۱)، لاما گواناکو (۲)، ویکونا ویکونا (۳)، لاما پاکوس یا آلپاکا (۴)، شتر عربی (۵)، شتر ترکمن ایرانی (۶)، شتر دوکوهانه وحشی (۷)، شتر دوکوهانه اهلی (۸)

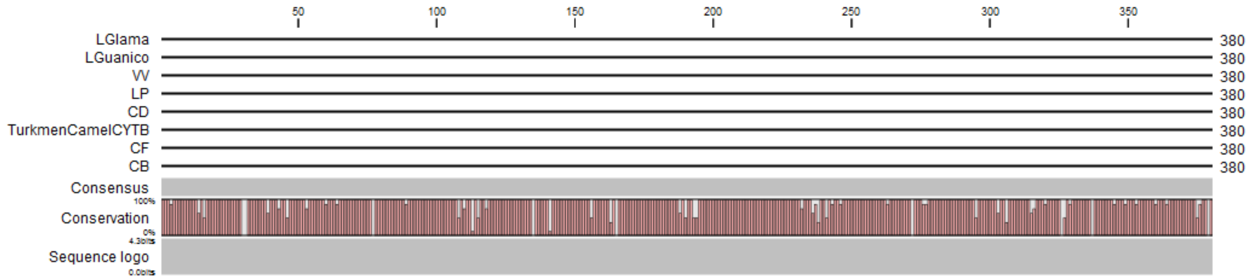
Lama glama (1), Lama guanicoe (2), Vicugna vicugna (3), Lama pacos or Alpaca (4), Arabian camel (5), Iranian Turkmen camel (6), Wild Bactrian camel (7), Bactrian camel (8)



شکل ۲– درخت فیلوژنتیکی توالی DNA ژن‌های رفرنس سیتوکروم b

Figure 2- Phylogenetic tree of DNA sequences of cytochrome b reference genes

با بررسی فیلوژنی سیتوکروم b گونه‌های مختلف شتر، مشخص گردید که برخی از شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه اهلی با شترهای دوکوهانه وحشی ارتباط دارند. نتایج حاکی از آن است که شترهای ماده دوکوهانه وحشی با شترهای نر تک‌کوهانه و دوکوهانه اهلی آمیزش یافته و فنوتیپ تک‌کوهانه یا دوکوهانه اهلی حاصل از آن‌ها پرورش یافته‌اند. در میان شترهای بدون کوهان نیز تداخل بین گونه‌ای وجود دارد، به‌طوری‌که مشاهده می‌شود Lama Glama و Lama Pacos که اهلی هستند در میان گونه‌های وحشی Lama Guanicoe و Vicogna vicogna قرار می‌گیرند.



L Glama: Lama glama; L Guanico: Lama guanico; VV: Vicugna vicugna; LP: Lama pacos or Alpaca; CD: Arabian camel; TurkmenCamelCYTB: Iranian Turkmen camel; CF: Wild Bactrian camel; CB: Bactrian camel

شکل ۳- هم‌ترازی توالی پروتئین ژن سیتوکروم b در شتر ترکمن و سایر گونه‌های شتر

Figure 3- Alignment of protein sequences of cytochrome b gene in Turkmen camel and other camel species

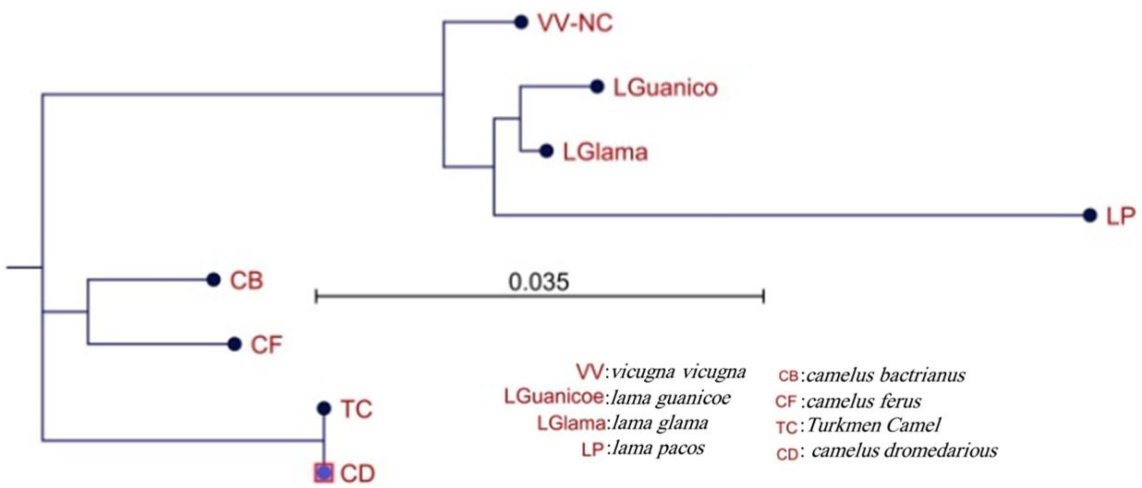
جدول ۲- تعداد گسست‌ها، تفاوت‌ها و تشابه‌ها در هم‌ترازی توالی پروتئین ژن سیتوکروم b در گونه‌های مختلف

Table 2- Number of gaps, differences and identities of CYTB protein in different camel species

گونه Species	تعداد گسست‌ها Gaps							تعداد تفاوت‌ها Differences							تعداد تشابه Identities						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
2	0							3							377						
3	0	0						4	7						376	373					
4	0	0	0					19	20	22					361	360	358				
5	0	0	0	0				23	24	22	37				357	356	358	343			
6	0	0	0	0	0			23	24	22	37	0			357	356	358	343	380		
7	0	0	0	0	0	0		21	22	19	33	15	15		359	358	361	347	365	365	
8	0	0	0	0	0	0	0	21	22	19	33	12	12	8	359	358	361	347	368	368	372

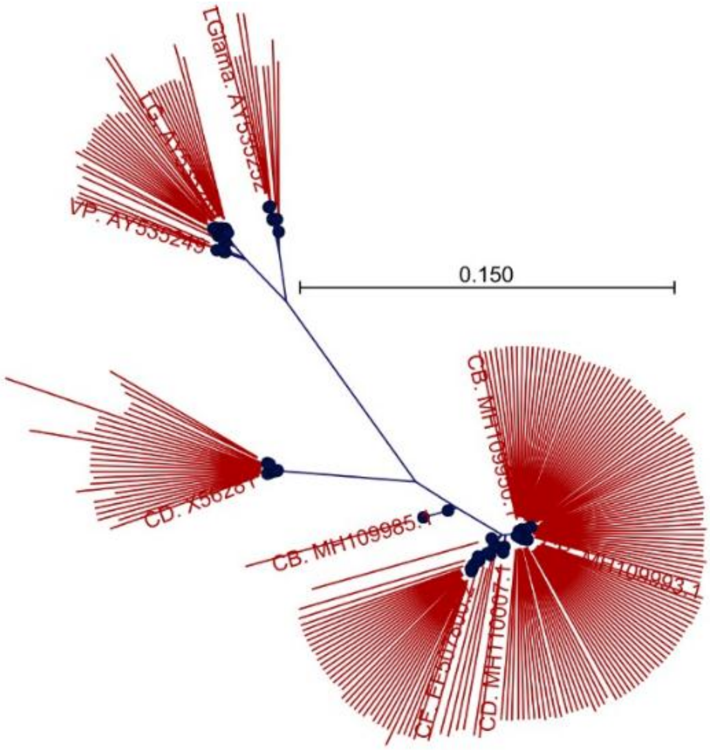
لاما گلاما (۱)، لاما گواناکو (۲)، ویکونا ویکونا (۳)، لاما پاکوس یا آلپاکا (۴)، شتر عربی (۵)، شتر ترکمن ایرانی (۶)، شتر دوکوهانه وحشی (۷)، شتر دوکوهانه اهلی (۸)

Lama glama (1), Lama guanicoe (2), Vicugna vicugna (3), Lama pacos or Alpaca (4), Arabian camel (5), Iranian Turkmen camel (6), Wild Bactrian camel (7), Bactrian camel (8)



شکل ٤- درخت فیلوژنتیکی توالی پروتئین‌های ژن‌های رفرنس سیتوکروم b

Figure 4- Phylogenetic tree of protein sequences of cytochrome b reference genes



L Glama: Lama glama; L Guanico: Lama guanico; VV: Vicugna vicugna; LP: Lama pacos or Alpaca; CD: Arabian camel; TurkmenCamelCYTB: Iranian Turkmen camel; CF: Wild Bactrian camel; CB: Bactrian camel

شکل ۵- درخت فیلوژنتیکی توالی DNA ژن سیتوکروم b در گونه‌های مختلف

Figure 5- Phylogenetic tree of DNA sequences of cytochrome b in different species

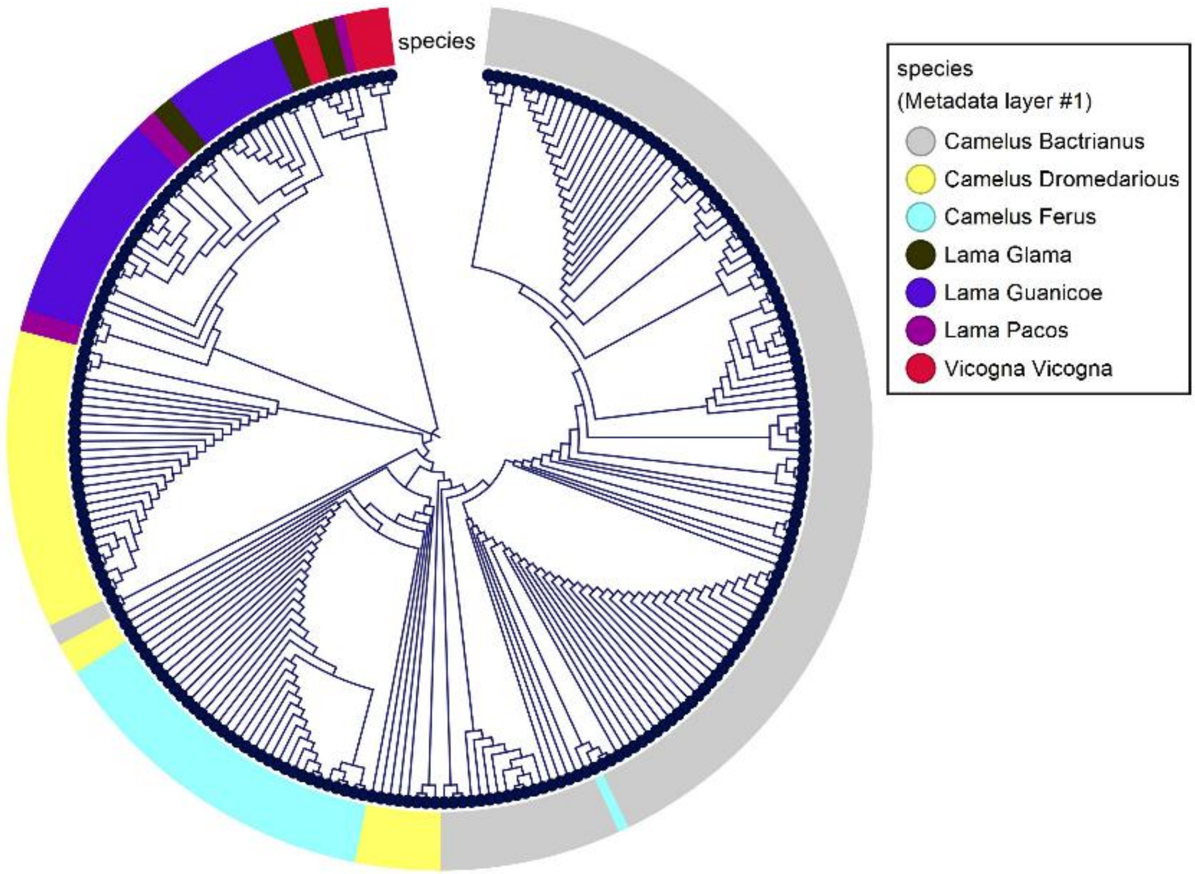
همان‌طور که در شکل ۶ مشخص است، شترهای بدون کوهان از لحاظ ژنتیکی بسیار نزدیک به هم می‌باشند، ویکوناها از لحاظ ژنتیکی فاصله بیشتری با گواناکوها دارند، امّا انواع اهلی لاما قرابت ژنتیکی با هر دونوع وحشی فوق دارند. برخی از شترهای تک‌کوهان نیز در بین شترهای دوکوهانه وحشی قرار می‌گیرند. به‌طوری‌که شترها دارای فنوتیپ تک‌کوهانه بودند، امّا از لحاظ ژنتیکی در میان دوکوهانه‌ها قرار دارند. علاوه‌بر آن، شترهای دوکوهانه اهلی نیز از لحاظ ژنتیکی منشعب از دوکوهانه‌های وحشی می‌باشند و برخی از آن‌ها از لحاظ ژنتیکی بین شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه‌های وحشی می‌باشند. یک شتر دوکوهانه وحشی نیز در میان دوکوهانه‌های اهلی قرار گرفت. برای مشخص کردن موقعیت جغرافیایی هر یک از موارد فوق نموداری با مشخص کردن منشأ جغرافیایی گونه‌ها ترسیم گردید. مینگ و همکارن (Ming *et al.*, 2016) در بررسی گونه‌های شتر دوکوهانه اهلی و وحشی نشان دادند که این دو گونه به‌صورت مستقل از همدیگر تکامل یافتند، در مطالعه آن‌ها مشخص گردید که فاصله فیلوژنتیکی شترهای دوکوهانه اهلی و وحشی به همدیگر نزدیک و از شترهای تک‌کوهانه دور می‌باشند. سوی و همکاران (Cui *et al.*, 2007) بر اساس توالی حاصل از سیتوکروم b به این نتیجه رسیده‌اند که شترهای تک‌کوهانه قبل از مهاجرت آن‌ها به اوراسیا از هم جدا شده‌اند. در مطالعه حاضر نیز نشان داده شده است که شترهای تک‌کوهانه از دوکوهانه جدا شده، سپس شترهای دوکوهانه وحشی و اهلی از یکدیگر جدا شده‌اند. همانند نتایج آن‌ها، فاصله فیلوژنتیکی بیشتری بین شترهای بدون‌کوهان و کوهان‌دار وجود دارد (Cui *et al.*, 2007). فیلوژنی ترسیم شده در این تحقیق با نتایج حسنین و همکاران (Hassanin *et al.*, 2012) که بر روی میتوکندری گونه‌های مختلف شتر ترسیم نموده‌اند، مطابقت دارد.

همان‌طور که مشخص گردید، شترهای تک‌کوهانه‌ای که از لحاظ ژنتیکی در بین شترهای دوکوهانه قرار دارند، تماماً نمونه‌های مربوط به کشور ایران می‌باشند. بدان معنی که شترهای تک‌کوهانه این نمونه‌های ایرانی دارای مادران دوکوهانه وحشی بودند، به‌طوری‌که ماده شترهای دوکوهانه وحشی به‌عنوان مولد با نرهای تک‌کوهانه اهلی آمیزش داده شده‌اند. برخی از نمونه‌های دیگر شترهای تک‌کوهانه ایرانی نیز در بین شترهای تک‌کوهانه قرار گرفتند، به‌طوری‌که هیچ قرابت ژنتیکی با شترهای دوکوهانه وحشی نداشتند. برخی از شترهای تک‌کوهانه ایرانی نیز قرابت نزدیکی با شترهای دوکوهانه اهلی داشتند. شتر تک‌کوهانه ترکمن ایرانی توالی‌یابی شده در این تحقیق نیز کاملاً در بین شترهای تک‌کوهانه قرار داشت، هر چند از لحاظ ژنتیکی، با انواع ایرانی در این

گروه اندکی فاصله داشت. به‌طور کلی، همان‌طور که در شکل ۷ مشخص است، با در نظر گرفتن شتر ترکمن، چهار گروه ژنتیکی برای شترهای تک‌کوهانه ایران وجود دارد که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی در این گونه دامی می‌باشد. منشأ جغرافیایی نمونه شتر دوکوهانه وحشی که در بین دوکوهانه‌های اهلی قرار داشت، کشور ژاپن بود.

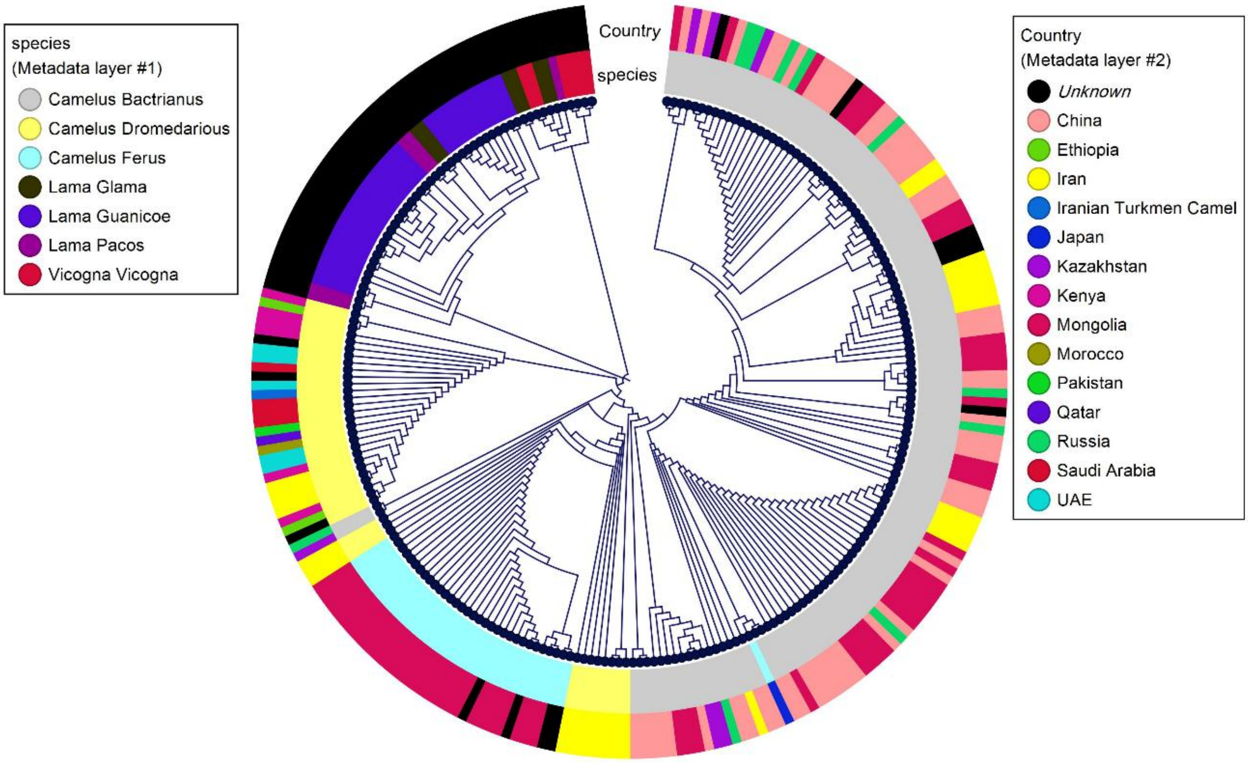
نتیجه‌گیری کلی

شترهای تک‌کوهانه ایرانی را با در نظر گرفتن نمونه تحقیق حاضر می‌توان در چهار گروه ژنتیکی دسته‌بندی نمود که دو گروه آن‌ها دارای منشأ شترهای دوکوهانه وحشی و اهلی می‌باشند و دو گروه دیگر در بین شترهای تک‌کوهانه اصیل قرار می‌گیرند. شترهای دوکوهانه اهلی ایرانی نیز از لحاظ فیلوژنتیکی به چهار گروه ژنتیکی قابل تقسیم بودند. از نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان در تعیین راهبردهای اصلاح نژادی این گونه ارزشمند استفاده نمود.



شکل ٦– درخت فیلوژنتیکی توالی DNA ژن سیتوکروم b در گونه‌های مختلف

Figure 6- Phylogenetic tree of DNA sequences of cytochrome b in different species



شکل ۷- درخت فیلوژنتیکی توالی DNA ژن سیتوکروم b در نمونه‌های گونه‌ها و کشورهای مختلف

Figure 7- Phylogenetic tree of DNA sequences of cytochrome b in samples of different countries and species

References

1. AlAskar, H., Alhajeri, B. H., Almathen, F., & Alhaddad, H. (2020). Genetic diversity and population structure of dromedary camel-types. *Journal of Heredity*, *111*(4), 405–413. DOI: 10.1093/jhered/esaa016.
2. Ali, A., Baby, B., & Vijayan, R. (2019). From desert to medicine: A review of camel genomics and therapeutic products. *Frontiers in Genetics*, *10*: 17. DOI: 10.3389/fgene.2019.00017.
3. Bhakat, C., & Sahani, S. (2019). Camel: A unique species in hot arid desert ecosystem. India: *Everyman's Science, XL*(6): 426-429. DOI: 10.31219/osf.io/6at4x.
4. Bahbahani, H., Musa, H. H., Wragg, D., Shuiep, E. S., Almathen, F., & Hanotte, O. (2019). Genome diversity and signatures of selection for production and performance traits in dromedary camels. *Frontiers in Genetics, 10*: 893. DOI: 10.3389/fgene.2019.00893.
5. Balmus, G., Trifonov, V. A., Biltueva, L. S., O'Brien, P. C. M., Alkalaeva, E. S., Fu, B., & Ferguson-Smith, M. A., (2007). Cross-species chromosome painting among camel, cattle, pig and human: Further insights into the putative cetartiodactyla ancestral karyotype. *Chromosome Research*, *15*(4): 499–515. DOI: 10.1007/s10577-007-1154-x.
6. Burger, P.A. (2016). The history of old world camelids in the light of molecular genetics. *Tropical Animal Health and Production*, *48*(5): 905–913. DOI: 10.1007/s11250-016-1032-7.
7. Cui, P., Ji, R., Ding, F., Qi, D., Gao, H., Meng, H., Yu, J., Hu, S., & Zhang, H. (2007). A complete mitochondrial genome sequence of the wild two-humped camel (camelus bactrianus ferus): An evolutionary history of camelidae. *BMC Genomics*, *8*: 241. DOI: 10.1186/1471-2164-8-241.
8. Di Rocco, F., Zambe, A., Mate, L., & Vidal-Rioja, L. (2010). The complete mitochondrial DNA sequence of the guanaco (lama guanicoe): comparative analysis with the vicun˜a (Vicugna vicugna) genome. *Genetica*, *138*: 813–818. DOI: 10.1007/s10709-010-9465-9.
9. FAO. The food and agriculture organization of the United Nations. 2019. Italy: *FAOSTAT*. ISBN: 978-92-5-106215-9.
10. Farag, M. R., El Bohi, K. M,. Khalil, S. R., Alagawany, M., Arain, M. A., Sharun, K., Tiwari, R., & Dhama, K. (2020). Forensic applications of mitochondrial cytochrome b gene in the idendification of domestic and wild animal species. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences, 8*(1): 1–8. DOI: 10.18006/2020.8(1).1.8.
11. Faraz, A. (2019). The camel: a short communication on classification and attributes. *Journal of Fisheries and Livestock Production*, *7*: 1–3. DOI: 10.4172/2332-2608.1000289.

12. Gebreyohanes, M. G., & Assen, A. M. (2017). Adaptation mechanisms of camels (camelus dromedarius) for desert environment: A review. *Journal of Veterinary Science and Technology, 8*: 1–5. DOI: 10.4172/2157-7579.1000486.
13. Groeneveld, L. F., Lenstra, J. A., Eding, H., Toro, M. A., Scherf, B., Pilling, B., Negrini, R., Finalay, E. K., Jianglin, H., Groeneveld, E., & Wigend, S. (2010). Genetic diversity in farm animals – A review. *Animal Genetics, 41*(Suppl 1): S6–S31. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2010.02038.x.
14. Hashim, M. W., Galal, Y. M., Ali, M. A., Khalafalla, A. I., Hamid, A. S., & Salah Eldein, S. A. (2015). Dromedary camels in sudan, types and sub types, distribution and movement. *International Journal of Pharmacological Research and Analysis, 5*: 8–12.
15. Hassanin, A., Delsuc, F., Ropiquet, A., Hammer, C., Van-Vuuren, B. J., Matthee, C., Ruiz-Garcia, M., Catzeflis, F., Areskoug, V., Nguyen, T. T., & Couloux, A. (2012). Pattern and timing of diversification of cetartiodactyla (mammalia, laurasiatheria), as revealed by a comprehensive analysis of mitochondrial genomes. *Comptes Rendus Biologies, 335*: 32–50. DOI: 10.1016/j.crvi.2011.11.002.
16. Kameshpandian, P., Thomas, S., & Nagarajan, M. (2016). Genetic diversity and relationship of Indian Muscovy duck populations. *Mithochondrial DNA part A, 29*(2): 165-169. doi: 10.1080/24701394.2016.1261851. DOI: 10.1080/24701394.2016.1261851.
17. Ming, L., Yi, L., Guo, F.C., Siriguleng, S., & Jirimutu, J. (2016). Molecular phylogeny of the bactrian camel based on mitochondrial cytochrome b gene sequences. *Genetics and Molecular Research, 15*(3): gmr.15038983. DOI: 10.4238/gmr.15038983.
18. Ming, L., Yi, L., Sa, R., Wang, Z.X., Wang, Z., & Ji, R. (2016). Genetic diversity and phylogeographic structure of bactrian camels shown by mitochondrial sequence variations. *Animal Genetics, 48*: 217–220. DOI: 10.1111/age.12511.
19. Piro, M., Mabsoute, F. E., El Khattaby, N., Laghouaouta, H., & Boujenane, I. (2020). Genetic variability of dromedary camel populations based on microsatellite markers. *Animal, 14*(12): 2452–2462. DOI: 10.1017/S1751731120001573.
20. Wheeler, J. C. (1995). Evolution and present situation of the South American camelidae. *Biological Journal of Linnean Society, 54*: 271–295. DOI: 10.1016/0024-4066(95)90021-7.
21. Wu, H. G., Guo, X. M., BAl-Fageeh, M., Cao, J. W., Pan, S. K., Zhou, H. M., Zhang, L., Abutarboush, M. H., Zhang, D., Li, J., Manee, M. M., Yang, Z. L., Yang, L. F., Liu, Y. Y., Zhang, J. L., Altammami, M. A., Wang, S. Y., Yu, L. L., Zhang, W. B., Liu, S. Y., Ba, L., Wang, J. Y., Yang, X. K., Meng, F. H., Wang, S. W., Li, L., Li, E. L., Wu, K. F., Zhang, S., Wang, J. Y., Yin, Y., Yang, H. M., Al-Swailem, A. M., & Wang, J. (2014). Camelid genomes reveal evolution and adaptation to desert environment. *Nature Communications, 5*: 5188. DOI: 10.1038/ncomms6188.